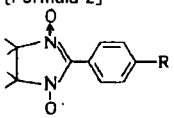
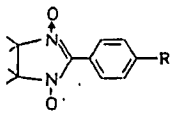
DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]
[0001]
[Industrial Application] This invention relates to a viral infectious disease therapy agent. It is related with viral infectious disease therapy agents, such as an influenza virus, a Herpes virus, a hepatitis virus, a cytomegalovirus, and a human immunodeficiency virus, in more detail.
[0002]
[Description of the Prior Art] It has been shown clearly that it acts in recent years as that a nitrogen-monoxide radical (it may be written as the following and NO) is **** of an inner-bark origin blood vessel relaxing factor and a neuromessenger. On the other hand, it is also known that -NO will cause a failure in various cells and organizations with the high chemical reactivity when NO is produced and emitted superfluously, since [unstable] it is radical. Moreover, it was recently shown clearly that -NO was the important onset factor of endotoxin shock, such as septicemia.
[0003] They are various kinds in order to analyze the symptoms bioactive manifestation device of the former and NO in the living body. The inhibitor of - NO synthase (it may be hereafter written as NOS) has been used. NOS inhibitors, such as L-arginine analog which are the inhibitor to induction and activation of NOS, the inhibitor of the cofactor of NOS, and competitive inhibitor of the substrate of NOS as such an NOS inhibitor, are mentioned.
[0004] The above-mentioned NOS inhibitor is in the living body. It is thought possible it to be not only useful, but to use for the analysis of the pathophysiology-function of -NO as remedies, such as a cell and an organization failure, a shock, and an ischemic disease. However, in addition to having a bad influence to metabolic systems, such as normal urea cycles in the living body other than -NO composition system, administration to the living organism of an NOS inhibitor continues for a long period of time by administration of the matter concerned. -NO composition is controlled and we are anxious also about possibility that a living body's normal circulation and a neurological function will be spoiled by this. By therefore, different device from an NOS inhibitor The living body which can control the activity of -NO effectively has been asked for the safer matter.
[0005] Recently and this invention persons Imidazoline oxyl which is the organic compound which reacts for whether being -NO and Sumiya and controls the bioactive strongly N-oxide derivative (imidazolineoxyl N-oxide derivative; it may be hereafter written as a PTIO derivative) It found out as a -NO elimination agent (832 Biochemistry 32,827- 1993). this PTIO derivative is a stable organic radical kind -- that bioactive is strongly controlled by carrying out a direct reaction to -NO.
[0006] Various pharmacological tests are tried paying attention to the operation of such a PTIO derivative. For example, a PTIO derivative is Sarcoma-180. Blood vessel permeability is controlled in a solid-carcinoma transplantation mouse (334 Jpn.J.Cancer Res.85,331- 1994), Cryptococcus neoformans It receives and has an antibacterial action (3555 Infect. Immun. 61, 3552- 1993), and thing (164 medical Ayumi and 166,161 - 1993) for which it has a strong blood-pressure maintenance operation and a kidney function improvement operation in the endotoxin-shock model of a rat etc. -- it is reported. Each of these suggests the possibility of application

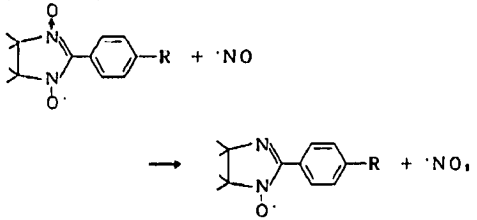
to the anticancer agent of a PTIO derivative, an antimicrobial agent, or an antishock agent, and the operation over virus infection is not known.
[0007] It is known that it is one of the pathogenic manifestation devices that the immunoreaction guided according to a viral infectious disease works disadvantageously for a living body, and destroys a host cell by the immunological mechanism in various viral infectious diseases in recent years. For example, although the role of active oxygen attracts attention in the symptoms manifestation of various inflammatory diseases, the oxygen radical (O2 and -) is increasing to influenza virus infection mouse lungs sharply, and it is known that the increment is completely changing to parallel with aggravation of a lesion. Furthermore, it is reported by by medicating a virus infection mouse with the allopurinol which is the inhibitor of the self-sustaining mold SOD in the living body (super oxy-DODESU mutase) or xanthine oxidase that O2 and - in the living body are removed, and a curative effect is acquired. From such a fact, it is suggested that the living body side factor of the host origins, such as an oxygen radical, involves in the symptoms manifestation of virus infection.
[0008] However, the viral infectious disease therapy agent with usefulness there are many points still unknown about the role of the living body side factor in virus infection symptoms, and high in view of a living body side factor is not yet obtained. Therefore, the purpose of this invention is to offer the viral infectious disease therapy agent which treats the pathogenic manifestation by virus infection effectively.
[0009]
[Means for Solving the Problem] this invention persons found out that NOS was guided with the appearance of the pathological view (consolidation accompanied by the cellular infiltration, an ecchymosis, etc.) of influenza virus pneumonia. NOS although -NO is produced -- septicemia, the endotoxin shock, arthritis, etc. -- setting -- above -- Overproduction of -NO Causing various organization traumata with the chemical reactivity as a radical of the -NO itself is suggested. From the above-mentioned thing, it was superfluously produced also in the indirect lung tissue trauma device through the immunoreaction by the side of the living body seen by virus infection symptoms. Research was repeated paying attention to the ability of -NO to serve as a trauma factor. Consequently, the PTIO derivative which is -NO elimination agent finds out improving the symptoms of virus infection notably in a mouse influenza virus pneumonia model, and came to complete this invention.
[0010] That is, the summary of this invention is (1) general formula [0011].
[Formula 2]



[0012] (-- R expresses a hydrogen atom, a carboxyl group, or a carboxy methoxy group among a formula.) -- imidazoline oxyl expressed It is related with a viral infectious disease therapy agent the above (1) which treats infection by the viral infectious disease therapy agent characterized by making N-oxide derivative into an active principle, the viral infectious disease therapy agent of the aforementioned (1) publication whose R in (2) general formulas is a hydrogen atom, (3) influenza viruses, the Herpes virus, the hepatitis virus, the cytomegalovirus, or the human immunodeficiency virus, or given in (2)
[0013] Hereafter, this invention is explained to a detail. The PTIO derivative used by this invention is a stable organic radical kind expressed with the following general formula.
[0014]
[Formula 3]



[0015] Here, the radical shown by R is mentioned as what has suitable things, such as a hydrogen atom, a carboxyl group, and a carboxy methoxy group. Moreover, the PTIO derivative used by this invention may be a salt permitted in pharmacology. For example, salt; ammonium salt of alkaline earth metals, such as salt; magnesium of alkali metal, such as sodium and a potassium, calcium, and barium; the salt of tertiary amine, such as a pyridine, triethylamine, and Tori n butylamine, etc. is mentioned.
[0016] A PTIO derivative is a well-known compound and can be easily prepared by the well-known approach. (For example, that whose R in a general formula is a hydrogen atom, i.e., 2-phenyl, - 4, 4, 5, and 5-tetramethyl imidazoline-1-oxy-3-oxide (it may be hereafter written as PTIO) is compoundable to J.Am.Chem.Soc.90, and 1078 and 1968 by the approach of a publication.)
[0017] Moreover, that whose R in general formula is carboxyl group, 2-(4-carboxyphenyl)-4 [i.e.,], 4 and 5, and 5-tetramethyl imidazoline-1-oxy-3-oxide (It may be hereafter written as carboxy-PTIO.) After a potassium-hydrogencarbonate water solution neutralizes 2, the 3-screw (hydroxy amino) -2, and 3-dimethyl butyl sulfate water solution, 4-formyl benzoic acid is added and it is 1 and 3-dihydroxy first, - A 4, 4, 5, and 5-tetramethyl-2-(4-carboxyphenyl) tetrahydro imidazole is obtained. It continues, and in N,N-dimethylformamide, a lead dioxide is added, and this compound is stirred and filtered. The water-soluble fraction of filtrate is condensed, a solution is adjusted to pH8.0, and it freeze-dries. The potassium salt of carboxy-PTIO can be obtained (Biochemistry 32, 827-832, 1993).
[0018] Moreover, that whose R in general formula is carboxy methoxy group, 2-[4-(carboxy methoxy) phenyl]-4 [i.e.,], 4 and 5, and 5-tetramethyl imidazoline-1-oxy-3-oxide (It may be hereafter written as carboxymethoxy-PTIO.) 4-formyl phenoxyacetic acid is used instead of 4-formyl benzoic acid, and it is a ****. By the same approach as carboxy-PTIO The potassium salt of carboxymethoxy-PTIO can be obtained (Biochemistry 32, 827-832, 1993).
[0019] These PTIO derivatives are set in the living body. A direct reaction is carried out as shown in -NO and the following formula. -NO -NO2 It changed and this produced superfluously in the living body. -NO is eliminable. In addition, it produced. -NO2 Although it is thought that there is antiviral activity in itself, they are HNO2 and HNO3 at the usual metabolic fate after that. It is become and detoxified.
[0020]
[Formula 4]



[0021] Although solubility [as opposed to water in three kinds of aforementioned PTIO derivatives] differs, the reactivity with -NO is the same, is set to this invention, and may use a gap. Moreover, two or more sorts of these derivatives may be used together and used.
[0022] When a virus infection mouse is medicated with the PTIO derivative in this invention, the restorative effect and the high survival rate of remarkable weight are acquired, and the pathogenic manifestation by virus infection can be effectively treated by administration of a

PTIO derivative. Such pharmacology effectiveness of a PTIO derivative is considered to be the trauma factor by the side of a living body in which production induction is superfluously carried out by a host's infection response to virus infection. It thinks based on eliminating -NO. - In virus infection, NOS is guided first and superfluous production induction of NO originates in NOS activity increasing sharply.
[0023] The effectiveness that it is effective, without being limited especially if it is the virus infection which causes the pharmacology effectiveness of the PTIO derivative in this invention and superfluous production of NO, for example, remarkable at the time of infection by an influenza virus, the Herpes virus, the hepatitis virus, the cytomegalovirus, a human immunodeficiency virus (HIV), etc. is accepted.
[0024] Moreover, PTIO derivative In order not to act on -NO production system, it is constantly [the prolongment nature accepted in an NOS inhibitor] required. -NO production control is not caused and the in vivo toxicity of a PTIO derivative is not accepted by bioactive concentration.
[0025] The viral infectious disease therapy agent of this invention makes the above PTIO derivatives an active principle. The infectious disease therapy of the virus in this invention is removing the trauma factor by the side of the living body guided by virus infection, and it is because the pathogenic manifestation by virus infection is removed and treated.
[0026] The viral infectious disease therapy agent of this invention is prepared so that taking orally or a parenteral target can be medicated with a PTIO derivative. When prescribing a medicine for the patient by taking orally, a PTIO derivative is mixed with the additives (support, an excipient, diluent, etc.) permitted on physic, and it is used as powder, a granule, a tablet, a capsule, troches, liquor, syrups, oils, etc. When parenteral, it is used as a solution or suspension as injections or suppositories, such as intravenous drip, intravenous injection, intramuscular injection, and subcutaneous injection, etc. The loadings of the PTIO derivative in each pharmaceutical preparation are selected suitably, and are not limited especially.
[0027] For example, in order to manufacture oils, homogeneity can be distributed to the middle class thru/or higher-fatty-acid glyceride, and a PTIO derivative can be prepared to it. The middle class thru/or higher-fatty-acid glyceride used here is the saturation of 6-20 carbon numbers or Monod of unsaturated fatty acid, G, or triglyceride. When the typical thing contained in the above-mentioned fatty-acid glyceride is mentioned, they are Monod of a caprylic acid, a capric acid, a lauric acid, a myristic acid, a palmitic acid, oleic acid, linolic acid, and a linolenic acid, G, or triglyceride, for example. these fatty-acid glyceride is independent -- or it can be used, mixing suitably.
[0028] Fatty-acid glyceride may be any of the thing of a natural thing, composition, or a semisynthesis. Usually, it is convenient to use natural vegetable oil. As vegetable oil used in this invention, olive oil (70 - 85% of oleic acid, 4 - 12% of linolic acid, 7 - 15% of palmitic acids), corn oil (40 - 60% of linolic acid, 25 - 45% of palmitic acids), sesame oil (35 - 46% of oleic acid, 35 - 48% of linolic acid), camellia oil, palm oil (45 - 52% of lauric acids, 4 - 12% of capric acids, 6 - 10% of caprylic acids), palm oil, etc. are desirable, for example. A commercial item can be used for these as it is. As commercial middle-class fatty-acid triglyceride for example, PANASETO 875 (trademark) by Nippon Oil & Fats Co., Ltd. -- said -- 810 -- said -- 800 (10 - 100% of caprylic-acid contents) -- ODO (trademark) (67% of caprylic-acid contents) by the Nisshin Oil Mills, Ltd. etc. as middle-class fatty acid monoglyceride for example, the gay tex PT by Kao Corp. (trademark) (about 60% of capric-acid contents) etc. -- the monoglyceride of a middle-class fatty acid, and a jig resaler -- as mixture with the id for example, DINA mitt Nobel Witafrol (trademark) etc. -- moreover -- as higher-fatty-acid triglyceride -- Wako Pure Chem Industry -- the olive oil of make, the linolic acid by Nippon Oil & Fats Co., Ltd., other commercial edible oil, etc. can use, respectively.
[0029] In order to manufacture the viral infectious disease therapy agent of this invention, in addition to the fatty-acid glyceride which added an amphiphilic assistant and/or low-grade alkanol beforehand, or non-added fatty-acid glyceride, the PTIO derivative prepared by the value (6.8-7.5) of a request of pH or its freeze-drying powder of the water solution of a salt (it is hereafter called PTIO derivatives for short) permitted in pharmacology is distributed to homogeneity. Or the ammonium-carbonate water solution of PTIO derivatives, the water solution

of an amphiphilic assistant, and/or mixture with low-grade alkanol are freeze-dried, the middle class thru/or a higher-fatty-acid glyceride solution are added to desiccation powder, and it distributes to homogeneity. By preparing the obtained dispersion liquid with a conventional method according to various kinds of pharmaceutical forms, the viral infectious disease therapy agent of this invention can be manufactured.

[0030] The amphiphilic assistant used here is the nontoxic matter equipped with the hydrophilic property and oleophilic quality of both sexes. As a typical thing, a natural amphoteric surface active agent, polyglyceryl fatty acid ester, polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester (Tween system), a sorbitan fatty acid ester (Span system), a polyethylene glycol, etc. can be mentioned. as a natural amphoteric surface active agent -- desirable -- soybean phosphatide, yolk lecithin, and these relatives -- it is a compound, for example, the phosphatidylcholine by Nippon Oil & Fats Co., Ltd., yolk lecithin, a soybean lecithin, phosphatidylethanolamine, etc. can be used. Moreover, if it considers as polyglyceryl fatty acid ester, for TSUIN (Tween) [the product made from Wako Pure Chem Industry] 20 (trademark), as polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester, a span (Span) [the product made from Wako Pure Chem Industry] 20 (trademark) is [YUNIGURI [the Nippon Oil & Fats Co., Ltd. make]] PEG as a polyethylene glycol as a sorbitan fatty acid ester, for example, 6000 can use, respectively. In addition, for example, the Rau Lynne sodium sulfate can be used as an anionic surface active agent, and a benzalkonium chloride, benzethonium chloride, and EIZON (trademark) (U.S. NelsonRes.& Dev. shrine make) can be used as a cationic surface active agent, respectively. Moreover, ethanol, propanol, isopropanol, a butanol, etc. can be used as low-grade alkanol used here. Moreover, amino acid, its derivative (an example, a 5-oxo--2-pyrrolidine carboxy rucksack acid fatty acid ester), etc. can be used.

[0031] The amount of the fatty-acid glyceride used is about 0.1-100ml to 1mg of PTIO derivatives, and is 0.5-5ml preferably. Although an amphiphilic assistant and low-grade alkanol do not necessarily need to be added, when adding these, while the wetting effectiveness over an oil is added and the increase of distributed solubility and a stable constituent are obtained, an absorption facilitatory effect is added. Although the additions of an amphiphilic assistant differ according to the class, in a liquid assistant, 0.05-5mg is usually suitable for them at 0.01-0.1ml or a solid-state assistant to 1mg of PTIO derivatives. The addition of low-grade alkanol is about 1 - 15% of the weight of the whole quantity. By addition of low-grade alkanol, it can be made a more uniform solution.

[0032] although the dose in the Homo sapiens of the viral infectious disease therapy agent of this invention changes with a patient's age, weight, a symptom, administration roots, etc. -- the case of intravenous drip intravenous administration -- an adult -- one person is usually the range of 100mg - 5g as a PTIO derivative per day, and a medicine can be preferably prescribed for the patient in 200mg - 2g.

[0033]

[Example] Hereafter, although the example of an experiment and an example explain this invention in more detail, this invention is not limited at all by these examples etc.

[0034] The ddY system mouse (5-6 weeks old, weight of about 30g) was made to carry out pernasal spraying infection of the example of experiment 1 influenza virus [A2 / Kumamoto (H2 N2)] in the amount equivalent to a fifty percent lethal dose value. It medicated intraperitoneal one with 5mg [per mouse] PTIO once [1] per day for five days from the 3rd after infection. PTIO used the PTIO oils made to dissolve 10mg PTIO in 1ml oils (PANASETO 875 (trademark); Nippon Oil & Fats Co., Ltd. make). As contrast, it medicated intraperitoneal with 0.5ml per mouse for the oils which do not contain PTIO once [1] per day similarly. The number of each groups is ten and they showed the effectiveness over weight recovery of these mice and a survival rate to drawing 1 and drawing 2 , respectively.

[0035] The group [weight recovery / clearly] compared with a control group rashly which prescribed PTIO oils for the patient so that clearly from drawing 1 and drawing 2 Moreover, the group which prescribed PTIO oils for the patient to 60% of the control group about the survival rate became 100%. From the above-mentioned result, it was shown clearly that the PTIO oils in this invention had a curative effect to an influenza virus infection mouse.

[0036] It replaces with PTIO in the example 1 of example of experiment 2 experiment. It was the

same result when the same experiment was conducted using carboxy-PTIO and carboxymethoxy-PTIO.

[0037] It is referred to as oils-ized PTIO by carrying out shaking stirring and solubilizing PTIO of 11.0g of examples to 100ml PANASETO 875 (trademark) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd. make).

[0038] A solution is prepared by adding the phosphatidylcholine of 250mg of examples to 1ml distilled water, and ultrasonicating and melting it. It freeze-dries, after carrying out mixed stirring of the tales doses of this solution and the solution (50mg/(ml)) which dissolved the powder of carboxy-PTIO in 0.02% ammonium-carbonate water solution under ice-cooling. 30ml of PANASETO 875 (trademark) is added to 100mg of this freeze-drying powder, and it ultrasonicates for 30 seconds by being during an iced water bath. carboxy-PTIO content liquids and solutions are obtained.

[0039] Example 3 carboxy-PTIO100mg is melted in a bicarbonate-od-soda solution 5.0 20ml%, and can be made into water-soluble injections. carboxymethoxy-PTIO can be similarly made into water-soluble injections.

[0040]

[Effect of the Invention] The viral infectious disease therapy agent of this invention is superfluously produced by a host's infection response at the time of virus infection. The PTIO derivative from which -NO is removed effectively is made into an active principle, and it is useful to pathogenic manifestation ****** by virus infection, such as an influenza virus, a Herpes virus, a hepatitis virus, a cytomegalovirus, and a human immunodeficiency virus. Therefore, it is used as the prophylactic to such virus infection, and a remedy.

[Translation done.]

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]
[Drawing 1] Drawing 1 is drawing showing the weight restorative effect of the mouse in the example 1 of an experiment, and medicates intraperitoneal one with PTIO once [1] per day at the time of an arrow head.
[Drawing 2] Drawing 2 is drawing showing the survival rate of the mouse in the example 1 of an experiment, and medicates intraperitoneal one with PTIO once [1] per day at the time of an arrow head.

[Translation done.]

(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) 公開特許公報（Ａ）　(11)特許出願公開番号

特開平8－12574

(43)公開日　平成8年(1996)1月16日

(51)Int.Cl.⁶	識別記号	庁内整理番号	Ｆ Ｉ	技術表示箇所
Ａ６１Ｋ　31/415	ＡＤＹ			
// Ｃ０７Ｄ 233/06				
233/26				

審査請求　未請求　請求項の数3　ＦＤ　（全 6 頁）

(21)出願番号　特願平6－171946

(22)出願日　平成6年(1994)6月29日

特許法第30条第１項適用申請有り　平成6年1月25日、日本細菌学会発行の「日本細菌学雑誌第49巻第1号」に発表

(71)出願人　000201320
前田　浩
熊本県熊本市保田窪3丁目21番19号

(71)出願人　000183370
住友製薬株式会社
大阪府大阪市中央区道修町２丁目２番８号

(72)発明者　前田　浩
熊本県熊本市保田窪三丁目21番19号

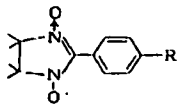
(72)発明者　赤池　孝章
熊本県熊本市長嶺町2042－191

(74)代理人　弁理士　細田　芳徳

(54)【発明の名称】　ウイルス感染症治療剤

(57)【要約】　（修正有）

【構成】下記式



（式中、Ｒは水素原子、カルボキシル基又はカルボキシメトキシ基を表す。）で表わされるイミダゾリンオキシル　Ｎ－オキシド誘導体を有効成分とすることを特徴とするウイルス感染症治療剤。

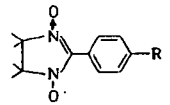
【効果】上記のウイルス感染症治療剤は、ウイルス感染時に宿主の感染応答により過剰に産生される・ＮＯを効果的に除去するＰＴＩＯ誘導体を有効成分とするものであり、インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト免疫不全ウイルス等のウイルス感染による病原性の発現症治療に有用である。従って、これらのウイルス感染に対する予防薬、治療薬として利用される。

1

【特許請求の範囲】

【請求項１】　一般式

【化１】



（式中、Ｒは水素原子、カルボキシル基又はカルボキシメトキシ基を表す。）で表わされるイミダゾリンオキシル　Ｎ－オキシド誘導体を有効成分とすることを特徴とするウイルス感染症治療剤。

【請求項２】　一般式中のＲが水素原子である請求項１記載のウイルス感染症治療剤。

【請求項３】　インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス又はヒト免疫不全ウイルスによる感染を治療する請求項１又は２記載のウイルス感染症治療剤。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【産業上の利用分野】本発明はウイルス感染症治療剤に関する。さらに詳しくは、インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト免疫不全ウイルス等のウイルス感染症治療剤に関する。

【０００２】

【従来の技術・発明が解決しようとする課題】近年、一酸化窒素ラジカル（以下、・ＮＯと略記することがある。）が内皮由来血管弛緩因子の本態であること及び神経情報伝達物質として作用することが明らかにされてきた。一方、・ＮＯは不安定なラジカルであるため、・ＮＯが過剰に産生、放出された場合、その高い化学的反応性により様々な細胞及び組織に障害を引き起こすことも知られている。また、・ＮＯが敗血症などのエンドトキシンショックの重要な発症因子であることが最近になって明らかにされた。

【０００３】これまで、・ＮＯの生体内での病態生理活性発現機構を解析するために、各種の・ＮＯ合成酵素（以下、ＮＯＳと略記することがある。）の阻害剤が用いられてきた。このようなＮＯＳ阻害剤としては、ＮＯＳの誘導・活性化に対する抑制物質、ＮＯＳの補因子の阻害剤、ＮＯＳの基質の競合阻害剤であるＬ－アルギニン類縁体等のＮＯＳ阻害剤が挙げられる。

【０００４】上記のＮＯＳ阻害剤は、生体内での・ＮＯの病態生理学的機能の解析に有用であるだけでなく、細胞及び組織障害、ショック、虚血性疾患等の治療薬として用いることも可能であると考えられる。しかし、ＮＯＳ阻害剤の生体系への投与が・ＮＯ合成系以外の生体内の正常な尿素サイクルなどの代謝系に対して悪影響を与える可能性があることに加えて、当該物質の投与により長期間にわたって　ＮＯ合成が抑制され、これにより生体の正常な循環、神経機能が損なわれる可能性も懸念されている。したがって、ＮＯＳ阻害剤とは異なる機構で・ＮＯの活性を効果的に抑制することのできる、生体に対してより安全な物質が求められてきた。

【０００５】最近、本発明者らは・ＮＯとすみやかに反応し、その生理活性を強く抑制する有機化合物であるイミダゾリンオキシル　Ｎ－オキシド誘導体（imidazolinoxyl N-oxide 誘導体；以下、ＰＴＩＯ誘導体と略記することもある。）を・ＮＯ消去剤として見いだした（Biochemistry 32,827-832,1993）。このＰＴＩＯ誘導体は安定な有機ラジカル種であり、・ＮＯと直接反応することによりその生理活性を強く抑制するものである。

【０００６】このようなＰＴＩＯ誘導体の作用に着目して、種々の薬理試験が試みられている。例えば、ＰＴＩＯ誘導体がSarcoma-180 固形癌移植マウスにおいて血管透過性を抑制すること（Jpn J Cancer Res 85,331-334,1994）、Cryptococcus neoformans に対して抗菌作用を有すること(Infect. Immun. 61,3552-3555,1993)、及びラットのエンドトキシンショックモデルにおいて強い血圧維持作用、腎機能改善作用を有すること（医学のあゆみ、166,161～164,1993）等が報告されている。これらはいずれもＰＴＩＯ誘導体の抗癌剤、抗菌剤、あるいは抗ショック剤等への適用の可能性を示唆するものであり、ウイルス感染に対する作用は知られていない。

【０００７】近年、様々なウイルス感染症において、ウイルス感染症により誘導される免疫反応が生体に不利に働き、免疫学的機序で宿主細胞を破壊することが病原性発現機構の１つであることが知られている。例えば、各種炎症性疾患の病態発現において活性酸素の役割が注目されているが、インフルエンザウイルス感染マウス肺には酸素ラジカル（$O_2^{\cdot-}$）が大幅に増加しており、その増加は病変の顕化と全くパラレルに推移していることが知られている。さらに、生体内持続型ＳＯＤ（スーパーオキシドデスムターゼ）あるいはキサンチンオキシダーゼの阻害剤であるアロプリノールをウイルス感染マウスに投与することにより生体内での$O_2^{\cdot-}$が除去され治療効果が得られることが報告されている。このような事実から、ウイルス感染の病態発現において酸素ラジカルなどの宿主由来の生体側因子が関与することが示唆されている。

【０００８】しかしながら、ウイルス感染病態における生体側因子の役割については未だ不明な点が多く、生体側因子からみて有用性の高いウイルス感染症治療剤は未だ得られていない。従って、本発明の目的は、ウイルス感染による病原性の発現を有効に治療するウイルス感染症治療剤を提供することにある。

【０００９】

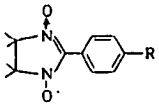
【課題を解決するための手段】本発明者らはインフルエンザウイルス肺炎の病理学的所見（細胞浸潤、出血斑な

どを伴うコンソリデーション）の出現に伴い、ＮＯＳが誘導されることを見い出した。ＮＯＳにより・ＮＯが生産されるが、敗血症、エンドトキシンショック、関節炎等においては、前記のように・ＮＯの過剰生産により・ＮＯそのもののラジカルとしての化学的反応性により様々な組織傷害を引き起こすことが示唆されている。上述のことから、ウイルス感染病態でみられる生体側の免疫反応を介した間接的肺組織傷害機構においても過剰に生産された　ＮＯが傷害因子となり得ることに着目し、研究を重ねた。その結果、・ＮＯ消去剤であるＰＴＩＯ誘導体が、マウスインフルエンザウイルス肺炎モデルにおいてウイルス感染の病態を顕著に改善することを見いだし、本発明を完成するに至った。

【００１０】即ち、本発明の要旨は、（１）一般式

【００１１】

【化２】

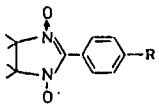


【００１２】（式中、Ｒは水素原子、カルボキシル基又はカルボキシメトキシ基を表す。）で表わされるイミダゾリンオキシル　Ｎ－オキシド誘導体を有効成分とすることを特徴とするウイルス感染症治療剤、（２）一般式中のＲが水素原子である前記（１）記載のウイルス感染症治療剤、（３）インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス又はヒト免疫不全ウイルスによる感染を治療する前記（１）又は（２）記載のウイルス感染症治療剤、に関する。

【００１３】以下、本発明を詳細に説明する。本発明で用いられるＰＴＩＯ誘導体は、次の一般式で表わされる安定した有機ラジカル体である。

【００１４】

【化３】



【００１５】ここで、Ｒで示される基は、水素原子、カルボキシル基、カルボキシメトキシ基といったものが好適なものとして挙げられる。また、本発明で用いられるＰＴＩＯ誘導体は、薬理学的に許容される塩であってもよい。例えばナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属の塩；マグネシウム、カルシウム、バリウムなどのアルカリ土類金属の塩，アンモニウム塩；ピリジン、トリエチルアミン、トリｎ－ブチルアミンなどの第３級アミンの塩などが挙げられる。

【００１６】ＰＴＩＯ誘導体は公知の化合物であり、公知の方法により容易に調製することができる。例えば、一般式中のＲが水素原子であるもの、即ち、２－フェニル－４，４，５，５－テトラメチルイミダゾリン－１－オキシ３－オキシド（以下、ＰＴＩＯと略記することがある。）は、J. Am. Chem. Soc. 90,1078,1968に記載の方法により合成できる。

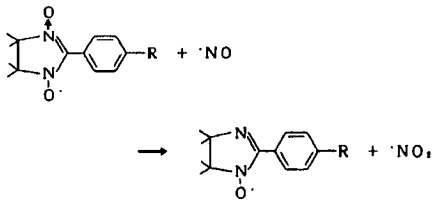
【００１７】また、一般式中のＲがカルボキシル基であるもの、即ち、２－（４－カルボキシフェニル）－４，４，５，５－テトラメチルイミダゾリン－１－オキシ３－オキシド（以下、ｃａｒｂｏｘｙ－ＰＴＩＯと略記することがある。）は、２，３－ビス（ヒドロキシアミノ）－２，３－ジメチルブチル硫酸エステル水溶液を炭酸水素カリウム水溶液で中和したあと、４－ホルミル安息香酸を添加して、まず１，３－ジヒドロキシ－４，４，５，５－テトラメチル－２－（４－カルボキシフェニル）テトラヒドロイミダゾールを得る。つづいて酸化合物をＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド中で二酸化鉛を加えて撹拌、濾過する。濾液の水溶性画分を濃縮、溶液をｐＨ８．０に調整し、凍結乾燥することで carboxy－ＰＴＩＯのカリウム塩を得ることができる(Biochemistry 32, 827-832, 1993)。

【００１８】また、一般式中のＲがカルボキシメトキシ基であるもの、即ち、２－（４－（カルボキシメトキシ）フェニル）－４，４，５，５－テトラメチルイミダゾリン－１－オキシ３－オキシド（以下、carboxymethoxy－ＰＴＩＯと略記することがある。）は、４－ホルミル安息香酸の代わりに４－ホルミルフェノキシ酢酸を用いて上述の carboxy－ＰＴＩＯと同様の方法によって、carboxymethoxy－ＰＴＩＯのカリウム塩を得ることができる(Biochemistry 32, 827-832, 1993)。

【００１９】これらのＰＴＩＯ誘導体は、生体内において・ＮＯと次の式に示すように直接反応して・ＮＯをNO_2に変換し、これにより生体内に過剰に産生した・ＮＯを消去することができる。尚、産生したNO_2はそれ自身、抗ウイルス活性があると考えられているものであるが、その後、通常の代謝経路でHNO_2、HNO_3となり、無毒化される。

【００２０】

【化４】



【００２１】前記の３種類のＰＴＩＯ誘導体は、水に対する溶解度は異なるものの、・ＮＯとの反応性は同様であり、本発明においてはいずれを用いてもよい。また、これらの誘導体の２種以上を併用して用いてもよい。

【００２２】本発明におけるＰＴＩＯ誘導体をウイルス感染マウスに投与した場合、顕著な体重の回復効果や高い生存率が得られ、ウイルス感染による病原性の発現をＰＴＩＯ誘導体の投与により有効に治療することができる。ＰＴＩＯ誘導体のこのような薬理効果は、ウイルス感染に対する宿主の感染応答により過剰に産生誘導される、生体側の傷害因子と思われる・ＮＯを消去することに基づくものと考えられる。・ＮＯの過剰な産生誘導はウイルス感染において、まずＮＯＳが誘導され、ＮＯＳ活性が大幅に高まることに起因するものである。

【００２３】本発明におけるＰＴＩＯ誘導体の薬理効果は、・ＮＯの過剰産生をきたすウイルス感染であれば特に限定されることなく有効であり、例えばインフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）等による感染時に顕著な効果が認められる。

【００２４】また、ＰＴＩＯ誘導体は・ＮＯ産生系に作用しないため、ＮＯＳ阻害剤に認められる遷延性の恒常的に必要な・ＮＯ産生抑制をきたすことはなく、ＰＴＩＯ誘導体のインビボでの毒性は生理活性濃度では認められない。

【００２５】本発明のウイルス感染症治療剤は、前記のようなＰＴＩＯ誘導体を有効成分とするものである。本発明におけるウイルスの感染症治療とは、ウイルス感染により誘導される生体側の傷害因子を除去することで、ウイルス感染による病原性の発現を除去し治療することによるものである。

【００２６】本発明のウイルス感染症治療剤は、ＰＴＩＯ誘導体を経口あるいは非経口的に投与することができるように調製される。経口で投与する場合、ＰＴＩＯ誘導体を医薬上許容される添加剤（担体、賦形剤、希釈剤等）と混合し、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、トローチ、水剤、シロップ剤、油剤等として用いられる。非経口の場合、溶液若しくは懸濁液として点滴、静注、筋注、皮下注射等の注射剤又は坐剤等として用いられる。各製剤中のＰＴＩＯ誘導体の配合量は、適宜選定され、特に限定されるものではない。

【００２７】例えば、油剤を製造するには、ＰＴＩＯ誘導体を中級ないし高級脂肪酸グリセライドに均一に分散させて調製することができる。ここで用いられる中級ないし高級脂肪酸グリセライドは、炭素数６～２０個の飽和または不飽和脂肪酸のモノ、ジーまたはトリグリセライドである。上記の脂肪酸グリセライドに含まれる代表的なものを挙げると、例えば、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸のモノ、ジーまたはトリグリセライドなどである。これらの脂肪酸グリセライドは、単独または適宜混合して使用できる。

【００２８】脂肪酸グリセライドは天然のもの、合成または半合成のもののいずれであってもよい。通常、天然の植物油を使用するのが便利である。本発明において使用される植物油としては，例えば，オリーブ油（オレイン酸７０～８５％、リノール酸４～１２％、パルミチン酸７～１５％），トウモロコシ油（リノール酸４０～６０％、パルミチン酸２５～４５％），ゴマ油（オレイン酸３５～４６％、リノール酸３５～４８％），ツバキ油、ヤシ油（ラウリン酸４５～５２％，カプリン酸４～１２％，カプリル酸６～１０％），パーム油などが好ましい。これらは、市販品をそのまま用いることができる。市販の中級脂肪酸トリグリセライドとしては，例えば日本油脂（株）製のパナセート８７５（登録商標），同８１０，同８００（カプリル酸含量１０～１００％）、日清製油（株）製のＯＤＯ（登録商標）（カプリル酸含量６７％）などが、中級脂肪酸モノグリセライドとしては，例えば花王（株）製のホモテクスＰＴ（登録商標）（カプリン酸含量約６０％）などが，中級脂肪酸のモノグリセライドとジグリセライドとの混合物としては，例えば，ダイナミット　ノーベル社製のＷｉｔａｆｒｏｌ（登録商標）などが，また高級脂肪酸トリグリセライドとしては和光純薬工業（株）製のオリーブ油，日本油脂（株）製のリノール酸，その他市販の食用油なども，それぞれ利用できる。

【００２９】本発明のウイルス感染症治療剤を製造するには、ｐＨを所望の値（６．８～７．５）に調製されたＰＴＩＯ誘導体またはその薬理学的に許容される塩（以下、ＰＴＩＯ誘導体類と略称する）の水溶液の凍結乾燥粉末を予め両親媒性助剤および／または低級アルカノールを添加した脂肪酸グリセライドもしくは未添加の脂肪

7

8

脂グリセライドに加えて均一に分散する。あるいは、ＰＴＩＯ誘導体類の炭酸アンモニウム水溶液と両親媒性助剤の水溶液および／または低級アルカノールとの混合物を凍結乾燥し、乾燥粉末に中級ないし高級脂肪酸グリセライド溶液を加えて均一に分散する。得られた分散液を各種の剤型に応じて常法により調製することにより、本発明のウイルス感染症治療剤を製造することができる。

【００３０】ここで用いる両親媒性助剤は、親水性と親油性の両性質を備えた非毒性の物質である。代表的なものとしては、天然の両性界面活性剤、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（Ｔｗｅｅｎ系）、ソルビタン脂肪酸エステル（Ｓｐａｎ系）、ポリエチレングリコールなどを挙げることができる。天然の両性界面活性剤としては、好ましくは大豆リン脂質、卵黄レシチンおよびこれらの水素化合物であり、例えば日本油脂（株）製のホスファチジルコリン、卵黄レシチン、大豆レシチン、ホスファチジルエタノールアミンなどが利用できる。また、ポリグリセリン脂肪酸エステルとしては、ユニグリ（日本油脂（株）製）が、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルとしては、例えばツィーン（Ｔｗｅｅｎ）２０（登録商標）（和光純薬工業（株）製）が、ソルビタン脂肪酸エステルとしては、例えばスパン（Ｓｐａｎ）２０（登録商標）（和光純薬工業（株）製）が、ポリエチレングリコールとしては、例えばＰＥＧ　６０００がそれぞれ利用できる。このほか、アニオン界面活性剤として、例えばラウリン硫酸ナトリウムを、またカチオン界面活性剤として、例えば塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、エイゾン（登録商標）（米国 NelsonRes & Dev 社製）をそれぞれ使用することができる。また、ここで用いる低級アルカノールとしては、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールなどが使用できる。またアミノ酸とその誘導体（例、５－オキソ－２－ピロリジンカルボキシリックアシッドの脂肪酸エステル）などを用いることができる。

【００３１】脂肪酸グリセライドの使用量は、ＰＴＩＯ誘導体類１mgに対して０．１～１００ｍｌ程度であり、好ましくは０．５～５ｍｌである。両親媒性助剤および低級アルカノールの添加は必ずしも必要ではないが、これらを添加する場合には油に対するウェッティング効果が付加され、分散溶解性が増し、安定な組成物が得られるとともに、吸収促進効果が付加される。両親媒性助剤の添加量は、その種類に応じて異なるが、通常ＰＴＩＯ誘導体類１mgに対して液体助剤では０．０１～０．１ｍｌ、または固体助剤では０．０５～５mgが適当である。低級アルカノールの添加量は全量の１～１５重量％程度である。低級アルカノールの添加により、より均一な溶液にすることができる。

【００３２】本発明のウイルス感染症治療剤のヒトでの投与量は、患者の年齢、体重、症状、投与ルート等によって異なるが、点滴静脈内投与の場合は、成人１人１日当りＰＴＩＯ誘導体として通常１００mg～５gの範囲で、好ましくは２００mg～２gの範囲で投与することができる。

【００３３】

【実施例】以下、実験例および実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例等によりなんら限定されるものではない。

【００３４】実験例１

インフルエンザウイルス［A_2／Ｋｕｍａｍｏｔｏ（H_2N_2）］をＬＤ$_{50}$値に相当する量でｄｄＹ系マウス（５～６週齢、体重約３０g）に経鼻噴霧感染させた。感染後３日目から５日間、マウス１匹あたり５mgのＰＴＩＯを１日１回腹腔内に投与した。ＰＴＩＯは１mlの油剤（パナセート８７５（登録商標）：日本油脂（株）製）に１０mgのＰＴＩＯを溶解させたＰＴＩＯ油剤を用いた。対照としては、ＰＴＩＯを含まない油剤を同様に１日１回マウス１匹あたり０．５ｍｌを腹腔内に投与した。各群は１０匹であり、これらのマウスの体重回復及び生存率に対する効果をそれぞれ図１及び図２に示した。

【００３５】図１および図２から明らかなように、ＰＴＩＯ油剤を投与した群は、対照群に比べて体重回復が明らかに早まった。また生存率については、対照群の６０％に対し、ＰＴＩＯ油剤を投与した群は１００％となった。上記の結果から、本発明におけるＰＴＩＯ油剤がインフルエンザウイルス感染マウスに対して治療効果を有することが明らかにされた。

【００３６】実験例２

実験例１において、ＰＴＩＯに代えて carboxyーＰＴＩＯ、carboxymethoxyーＰＴＩＯを用いて同様の実験を行ったところ、同様の結果であった。

【００３７】実施例１

１０gのＰＴＩＯを１００mlのパナセート８７５（登録商標）（日本油脂（株）製）に振盪撹拌し、可溶化することにより油剤化ＰＴＩＯとする。

【００３８】実施例２

５０mgのホスファチジルコリンを１mlの蒸留水に加え、超音波処理して溶かすことにより溶液を調製する。この溶液と、 carboxyーＰＴＩＯの粉末を０．０２％炭酸アンモニウム水溶液に氷冷下に溶解した溶液（５０mg／ml）との同量を混合撹拌したのち、凍結乾燥する。この凍結乾燥粉末１００mgに、パナセート８７５（登録商標）を３０ｍｌ加えて氷水浴中で超音波処理を３０秒間行うことにより carboxyーＰＴＩＯ含有液剤を得る。

【００３９】実施例３

carboxyーＰＴＩＯ１００mgを２０mlの５．０％重炭酸ソーダ溶液にとかし、水溶性注射剤とすることができる。carboxymethoxyーＰＴＩＯも同様にして水溶性注射剤とすることができる。

9

10

【００４０】

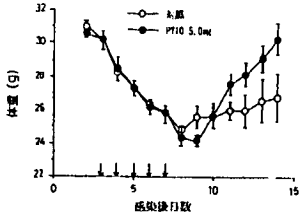
【発明の効果】本発明のウイルス感染症治療剤は、ウイルス感染時に宿主の感染応答により過剰に産生されるＮＯを効果的に除去するＰＴＩＯ誘導体を有効成分とするものであり、インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、サイトメガロウイルス、ヒト免疫不全ウイルス等のウイルス感染による病原性の発現症治療に有用である。従って、これらのウイルス感染に対する予防薬、治療薬として利用される。

【図面の簡単な説明】

【図１】図１は、実験例１におけるマウスの体重回復効果を示す図であり、矢印の時点で１日１回腹腔内にＰＴＩＯを投与したものである。

【図２】図２は、実験例１におけるマウスの生存率を示す図であり、矢印の時点でＰＴＩＯを１日１回腹腔内に投与したものである。

【図１】



【図２】